



PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **60047962 A**(43) Date of publication of application: **15.03.85**

(51) Int. Cl.

G01N 33/543
A61K 39/44
(21) Application number: **58154922**(71) Applicant: **TERUMO CORP**(22) Date of filing: **26.08.83**(72) Inventor: **ITO YOSHITAKA**

(54) **METHOD FOR MEASURING AMOUNT OF
ANTIGEN OR ANTIBODY IN BLOOD AND TEST
SOLUTION USED THEREIN**

(57) Abstract:

PURPOSE: To make it possible to directly measure the amount of an antigen or antibody from whole blood by omitting labor for preparing serum, by adding an antigen or antibody sensitized carrier floated solution of a hemolytic agent to a whole blood specimen, and tracking the agglutination reaction thereof.

CONSTITUTION: Saponin or various surfactants are used as a hemolytic agent. The hemolytic agent may be preliminarily added to whole blood prior to agglutination reaction to dissolve a red corpuscle or preliminarily added to an antigen or antibody sensitized carrier floated solution in a concn. of about 0.2V2% to dissolve the red corpuscle at the time of agglutination reaction. As the antigen or antibody sensitized carrier, a latex resin, an inorg. adsorbent or an immobilized red corpusele treated with chemicals can be used. The tracking of agglutination reaction is performed according to a usual method. That is, one drop of whole blood is dripped on a glass slide and one drop of the hemolytic agent or the antigen or antibody

sensitized carrier floated solution is added to said hemolytic agent while both of them are well mixed by a wooden rod and spread in a size of 20×25mm. The glass slide is held by both hands to be shaken and, thereafter, the presence of absence of agglutination is judged with the naked eye.

COPYRIGHT: (C)1985,JPO&Japio

⑫ Int.Cl.⁴

G 01 N 33/543
A 61 K 39/44

識別記号

庁内整理番号

7906-2G
7043-4C

⑬ 公開 昭和60年(1985)3月15日

審査請求 未請求 発明の数 2 (全3頁)

⑭ 発明の名称 血中の抗原または抗体量の測定方法およびそれに使用する試験液

⑮ 特 願 昭58-154922

⑯ 出 願 昭58(1983)8月26日

⑰ 発 明 者 伊 藤 良 孝 調布市小島町2丁目55番1号 調布南コーポラス805

⑱ 出 願 人 テルモ株式会社 東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目44番1号

⑲ 代 理 人 弁理士 西村 公佑

明 細 書

1. 発明の名称

血中の抗原または抗体量の測定方法およびそれに使用する試験液

2. 特許請求の範囲

(1) 全血検体に溶血剤と抗原または抗体感作抗体浮遊液とを加え、その凝集反応を遮断することと特徴とする血中の抗原または抗体量の測定方法。

(2) 溶血剤と抗原または抗体感作抗体とを含有することと特徴とする血中の抗原または抗体量の測定方法に使用する試験液。

(3) 溶血剤がサポニンである特許請求の範囲第2項記載の試験液。

3. 発明の詳細な説明

I. 発明の背景

技術分野

本発明は、血中の抗原または抗体量の測定方法およびそれに使用する試験液に関するものである。

さらに詳しくは、本発明は、血中の抗原または抗体量を免疫反応に基づく凝集反応により測定する方法およびそれに使用する試験液に関するものである。

本発明は、慢性関節リウマチの診断等各種の免疫学的検査に利用される。

先行技術およびその問題点

従来、凝集反応により血液中の抗原または抗体量を測定する場合、検体中に赤血球が存在すると肉眼による凝集の判定が困難であることから検体として血清が用いられていた。しかし検体の個数が多い場合等は血清の調製に相当の手間と時間を要する。また血清の調製のため、本来検査に必要としない余分な量の血液を採取しなければならない。

II. 発明の目的

そこで本発明は、血清を調製する手間を省き、全血から直接抗原または抗体量を測定することができる方法を提供することを目的とする。

さらに本発明は、上記の測定方法に使用される

試験液を提供することを目的とする。

かかる目的を達成するため、本発明は、全血検体に溶血剤の抗原または抗体感作担体浮遊液とを加え、その凝集反応を追跡することを特徴とする血中の抗原または抗体量の測定方法からなる。

さらに本発明は、溶血剤と抗原または抗体感作担体とを含有する上記測定方法に使用される試験液からなる。

さらに本発明は、溶血剤がサポニンである上記試験液からなる。

Ⅲ. 発明の具体的説明

本発明の方法は、採取した全血検体に溶血剤と抗原または抗体感作担体浮遊液とを加え、その凝集反応を追跡することによって実施される。

上記方法において溶血剤としてはサポニンや各種の界面活性剤が使用される。溶血剤は凝集反応に先立って予め全血に加え、赤血球を溶解してもよく、あるいは、抗原または抗体感作担体浮遊液に約0.2～2%の濃度で加えておき、凝集反応の際に赤血球を溶解させてもよい。抗原または抗体

感作担体としては、ラテックス樹脂、標識吸着剤、薬品処理した固定赤血球等従来公知のものが特に限定なく使用されうる。

凝集反応の追跡は常法に従って行なわれる。即ち、全血1滴をスライドガラス上に滴下し、これに溶血剤および抗原または抗体感作担体浮遊液の1滴を加え木の棒でよく混和し、およそ20×25mmぐらいにひろげる。スライドガラスを両手にもち、1分間ゆり動かした後凝集の有無を肉眼で判定する。その際赤血球は溶解しているので凝集判定の阻げにならない。

次に実施例を示して本発明をさらに具体的に説明する。

実施例

(1) リューマチ因子(RF)検出用ヒトガンマーグロブリン感作ラテックスの作成

グリシン-塩化ナトリウム緩衝液(pH8.2)(以下GNBと略称する)にポリスチレンラテックス(粒径0.117μ)を固形分2.0%となるように加えて懸濁させる。一方、GNBに対して過折

したヒトガンマーグロブリンを10mg/mlとなるようにGNBに溶かす。両液を体積比1:1で混合し、50℃で1時間加熱した。得られた液をGNBで遠心洗浄(17,000rpm、10分間)し、これに牛血清アルブミン0.5%、サポニン0.4%を含むGNBを加えて0.4%感作ラテックス浮遊液を作成した。以上の条件では感作蛋白濃度は10～100μg/ml、ラテックス粒子密度は 4.53×10^8 個/mlとなり、ラテックス粒子1個当たり75,000個のガンマーグロブリン分子が結合すると概算された。

(2) スライド凝集反応

上記(1)で得られた感作ラテックス1滴(約0.02～0.03ml)および血液または血清1滴を反応用スライドガラス上でよく混ぜ合わせ、直径約2cm程度にひろげて凝集反応を行なった。スライドガラスを前後にゆり動かしながら1分後に凝集の有無、程度を次の判定基準に従い判定した。結果を表1に示す。

陽性(+)

液全体に凝集塊が極めて多く、凝集していることが肉眼ではっきり認められる。

陰性(-)

肉眼では全く凝集が認められない。

判定不能(?)

ラテックスの凝集が判然としない。

陽性コントロール

慢性関節リウマチ(RA)コントロール血清
(凝集力価100)

陰性コントロール

健康人血清

上記コントロール血清と健康人濃厚赤血球とをそれぞれ再構成し(ヘマトクリット値40%)、被検体とした。

表1

	感作ラテックス 被検体	サポニン添加 感作ラテックス	サポニン無添加 感作ラテックス
陰性 コントロール	健常人血清	—	—
	全血（抗凝固剤無）	—	?
	全血（ヘパリン血）	—	?
	全血（ACD血）	—	?
陽性 コントロール	RA血清	+	+
	全血（抗凝固剤無）	+	?
	全血（ヘパリン血）	+	?
	全血（ACD血）	+	?

表1から、サポニン添加感作ラテックス試験液においては、検体として全血を使用しても判定が明瞭であり特異性に優れていることが明らかである。

IV. 発明の具体的作用効果

本発明によれば、全血から直接抗原または抗体量を測定することができる血中の抗原または抗体量測定方法が提供される。

本発明の方法においては前述した如く溶血剤が使用され、赤血球が溶解するので検体として全血を用いても凝集の有無判定は容易である。従って従来の測定法におけるように、凝集試験のために血清を調製する必要がなく、測定操作が簡略化される。

さらに本発明によれば、上記の測定法に好適に使用される試験液が提供される。本発明の試験液は、溶血剤と抗原または抗体感作担体とを含有しているので、これを全血と混合するだけで赤血球が溶け、凝集の判定が容易に行なわれる。

昭 62. 9. 1 発行

手 続 補 正 番

特許法第17条の2の規定による補正の掲載

昭和58年特許願第154922号(特開昭60-47962号, 昭和60年3月15日発行 公開特許公報60-480号掲載)については特許法第17条の2の規定による補正があったので下記のとおり掲載する。 6(1)

昭和62年5月27日

特許庁長官 堀 田 明 雄 殿

Int. Cl. 4	識別記号	庁内整理番号
G01N 33/543 A61K 39/44		7906-2G 7252-4C

1. 事件の表示

昭和58年特許願第154922号

2. 発明の名称

血中の抗原または抗体量の測定方法および
それに使用する試験液

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住 所 東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目44番1号

名 称 テルモ株式会社

4. 代 理 人

住 所 東京都千代田区麹町3丁目2番地(相互第一ビル)

電話 (261) 2022

氏 名 (8035) 西 村 公 佑



5. 補正命令の日付 (自発)

6. 補正の対象

明細書の特許請求の範囲および
発明の詳細な説明の欄



7. 補正の内容

- 1) 特許請求の範囲を別紙のとおりに補正する。
- 2) 第3頁第7行の「方法」を削除する。
- 3) 第8頁下から第5行の「測定法」を「測定」と補正する。

以 上

2. 特許請求の範囲

- 1) 全血検体に溶血剤と抗原または抗体感作組体浮遊液とを加え、その凝集反応を追跡することを特徴とする血中の抗原または抗体量の測定方法。
- 2) 溶血剤と抗原または抗体感作組体とを含有することを特徴とする血中の抗原または抗体量の測定に使用する試験液。
- 3) 溶血剤がサポニンである特許請求の範囲第2項記載の試験液。